

**CIRCULAIRE RELATIVE A LA PREVENTION DES ACCIDENTS
TRANSFUSIONNELS ET ACCIDENTS D'ALLOIMMUNISATION**

(Circulaire du 17 mai 1985 du Ministère des Affaires Sociales et de la solidarité Nationale, direction générale de la Santé, sous direction de l'organisation des soins et des programmes médicaux).

Circulaires abrogées par la présente circulaire :

- n° 84 du 15 décembre 1965,
- DGS/1247/AS. 1-2 du 28 décembre 1977,
- DGS /359/AS. 1-2 du 30 juin 1980.

LE MINISTRE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SOLIDARITE NATIONALE - Porte-parole du Gouvernement
à

Messieurs les Commissaires de la République des Régions,

(Direction régionale des Affaires Sanitaires et Sociales), pour information,

Messieurs les Commissaires de la République des Départements, (Direction départementale des Affaires Sanitaires et Sociales), pour exécution.

Les circulaires citées en référence vous donnaient des instructions sur les dispositions à prendre pour assurer la sécurité des transfusions sanguines.

Après une nouvelle étude par la Commission Consultative de la transfusion sanguine siégeant auprès de mon Administration Centrale et à la suite de la modification de la nomenclature des actes de biologie médicale concernant l'immuno-hématologie, il est apparu nécessaire de regrouper en un seul texte toutes les dispositions concernant la sécurité transfusionnelle et de décrire les techniques actuelles à utiliser dans ce domaine pour obtenir des résultats fiables.

Les instructions contenues dans cette circulaire visent plus particulièrement :

- les prescriptions médicales, afin d'adapter la prescription des examens spécifiques en fonction des besoins et de l'état du patient,
- les prélèvements, afin que le prélèvement soit effectué selon des règles strictes,
- les analyses de biologie médicale, afin de réaliser ces examens selon des règles qui garantissent des résultats aussi fiables et précis que possible.

La prévention des accidents d'alloimmunisation anti-érythrocytaires repose sur plusieurs tests :

- Le groupage sanguin (GS) qui correspond à la détermination des groupes sanguins ABO et Rhésus Standard (D) associée ou non à un dépistage simple des anticorps irréguliers (DSAI).
- La recherche d'anticorps irréguliers (RAI).
- L'épreuve directe de compatibilité au laboratoire (EDC).
- La détermination des phénotypes érythrocytaires.
- La vérification ultime au lit du malade.

Chacun de ces tests doit être réalisé dans des conditions techniques précises définies dans l'annexe n°1 de la présente circulaire ; la prévention des accidents d'alloimmunisation foeto-maternelle dépend de leur réalisation correcte.

**I – LE GROUPAGE SANGUIN (GS) : DETERMINATION DES GROUPES ABO
ET**

RHESUS STANDARD (D)

(Chapitre B V n° d'ordre 143 de la nomenclature des actes de biologie médicale).

A – Prélèvement

Le prélèvement doit être assuré selon des règles bien précises. La personne ayant effectué le prélèvement porte sur l'étiquette les indications suivantes, concernant le sujet prélevé : nom (complété s'il y a lieu par le nom marital), prénoms, le sexe, la date et le lieu de naissance, la date de prélèvement, et si possible le lieu. La vérification directe d'identité doit être réalisée par la personne effectuant le prélèvement.

Si l'on prélève du sang à plusieurs personnes comme c'est souvent le cas en milieu hospitalier, les étiquettes ne doivent jamais être fixées d'avance sur les flacons ou les tubes. C'est immédiatement après chaque prélèvement, et après contrôle de l'identité que l'étiquette doit être remplie (en interrogeant l'intéressé et non pas seulement en se fiant à une pièce du dossier présenté) puis placée sur le flacon ou le tube.

Une dernière vérification doit être effectuée en faisant relire par le patient l'étiquette collée.

Les contrôles doivent être particulièrement vigilants chez les sujets comateux, chez les nouveaux-nés et plus généralement chez tout sujet ininterrogeable.

Dans tous les cas, il convient de joindre au flacon étiqueté une fiche d'accompagnement, sur laquelle figureront outre les mentions déjà portées sur l'étiquette :

- la nature de l'examen demandé,
- le nom, la qualité et la signature de la personne ayant déjà effectué le prélèvement,
- s'il y a lieu des renseignements cliniques succincts : ictères, hémorragies, anémies, maladies par auto-anticorps ou autres affections hématologiques, maladies virales transmissibles, voire toutes autres indications pouvant avoir des répercussions sur la détermination des épreuves à réaliser. Si le malade a déjà reçu des transfusions, il importe de le rappeler en précisant le nombre et les dates.

B – Groupage sanguin

1) Groupage ABO : deux épreuves doivent obligatoirement être réalisées :

➤ Epreuve de Beth-Vincent ou épreuve globulaire : elle consiste à mettre en évidence à la surface des hématies la présence des antigènes A ou B à l'aide de trois réactifs : anti-A, anti-B et anti-A+B. Ces réactifs doivent être conservés dans les conditions données par le producteur, ils ne seront pas utilisés au-delà de leur date limite d'activité. Cette activité sera au mieux contrôlée périodiquement au moyen d'échantillons d'hématies de groupes sanguins connus. Il s'agit d'une recommandation essentielle notamment pour les établissements dont l'activité en matière de groupage est limitée, des erreurs pouvant en effet résulter de l'emploi de réactifs conservés dans de mauvaises conditions ou utilisés après leur date de péremption. La garantie d'activité anticorps de ces réactifs est liée à la présence d'un numéro de conformité délivré par le Centre National de Référence pour les Groupes Sanguins (CNRGS).

➤ *Epreuve de Simonin ou épreuve sérique* : elle consiste à rechercher des anticorps anti-A ou anti-B dans le sérum. Ces anticorps sont détectés à l'aide d'hématies A₁, A₂, B et O préparées selon les règles définies à l'article 9 de l'arrêté du 8 février 1984 (J.O. du 17 mars 1984). Ces globules rouges de contrôle doivent être conservés à 4 °C en récipient stérile dans un milieu approprié au maintien de leur qualité.

Ces deux épreuves (épreuve globulaire et épreuve sérique) doivent être réalisées par deux techniciens différents, à l'aide de deux séries de réactifs différentes. Les conditions techniques de ces tests sont précisées en annexe I. L'ensemble de ces tests correspond à une détermination.

2) Détermination du phénotype Rh standard (D) :

cet examen est réalisé au moyen de deux réactifs anti D. En même temps que la réaction, sera réalisée une épreuve témoin, à l'aide d'un réactif «témoin», de constitution identique aux réactifs anti-D et dépourvu de toute activité anticorps spécifique. Les conditions techniques de ce test sont mentionnées en annexe I. L'ensemble de ces tests correspond à une détermination. L'activité anticorps des réactifs anti-D sera attestée par le numéro de conformité délivré par le C.N.R.G.S.

Il faut rappeler que l'on doit désigner par Rh + les sujets dont les globules rouges sont agglutinés par les réactifs anti-D et par Rh – ceux dont les globules rouges ne le sont pas. Ces déterminations doivent être réalisées par deux techniciens différents et à l'aide de deux séries de réactifs différentes.

Il convient de souligner que les résultats de groupage sanguin ne pourront être considérés comme définitifs qu'après une seconde détermination pratiquée ultérieurement à partir d'un nouveau prélèvement à distance du précédent et selon l'ensemble des modalités indiquées ci-dessus.

C – Transcription des résultats

1) Transcription interne

Le plus grand soin sera apporté à l'exactitude de la transcription des résultats de la détermination des groupes d'une part sur les registres du laboratoire qui a pratiqué les examens, et d'autre part sur les documents délivrés aux intéressés. Cette responsabilité doit être confiée à deux personnes, l'une contrôlant l'autre. Elles doivent veiller à ce que les résultats consignés soient bien ceux obtenus à partir du prélèvement de la personne dont l'identité figure sur l'étiquette apposée sur le tube ou le flacon.

2) Etablissement et délivrance des cartes de groupes sanguins

La carte de groupe sanguin doit au minimum comporter les indications précisées à l'annexe II et mentionner que l'examen est réalisé conformément aux dispositions de la présente circulaire.

La détermination des groupes sanguins par des techniques automatiques ou semi-automatiques doit être effectuée avec les mêmes règles que celles énoncées pour les techniques manuelles.

II – LE DEPISTAGE SIMPLE DES ANTICORPS IRREGULIERS (D.S.A.I.)

(chapitre B V n° 144 de la nomenclature des actes de biologie médicale)

Au cours de la détermination des groupes sanguins ABO et Rh standard (D) un dépistage simple d'anticorps irréguliers peut être effectué. Ce dépistage est réalisé à l'aide d'une gamme d'hématies tests de dépistage définie à l'article 9, paragraphe 2 de l'arrêté du 8 février 1984 selon au moins une technique capable de dépister des «anticorps incomplets» ; la positivité de ce test nécessite la réalisation d'une recherche d'anticorps irréguliers (R.A.I.). Les techniques recommandées sont indiquées en annexe I. Les résultats ainsi que les spécificités des anticorps recherchés doivent être mentionnés sur la carte de groupes sanguins avec la date d'exécution et sur le compte rendu d'examen. **En aucun cas, la D.S.A.I. ne se substitue à la R.A.I. Sauf urgence, aucun patient ne peut être transfusé à la seule vue des résultats de la D.S.A.I.**

III – LA RECHERCHE DES ANTICORPS IRREGULIERS ANTI-ERYTHROCITAIRES (R.A.I)

à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B.

A – Indications

Les anticorps irréguliers anti-érythrocytaires sont actuellement encore responsables d'accidents transfusionnels ou foeto-maternels qui sont d'autant plus regrettables qu'une bonne organisation de détection de ces anticorps a montré que ces accidents pouvaient être évités.

La recherche d'anticorps irréguliers est indiquée chez :

- Tout patient susceptible à court terme d'être transfusé.
- Les patients polytransfusés, en bonne place au cours des séries de transfusion.
- La femme enceinte, conformément aux dispositions de l'arrêté du 19 avril 1985, relatif aux examens médicaux pré et post-nataux. Cette recherche est :
 - a) Systématique chez les femmes enceintes de phénotype Rh négatif au moins à quatre reprises :
 - avant la fin du troisième mois (premier examen prénatal),
 - au cours du sixième mois (deuxième examen prénatal),
 - dans les quinze premiers jours du huitième mois (troisième examen prénatal)

- à l'accouchement ou dans les huit semaines suivantes.

b) Systématique, au moins une fois, chez les femmes enceintes de phénotype Rh +, à l'occasion du deuxième ou troisième examen prénatal.

En cas de présence d'anticorps susceptibles d'entraîner des accidents d'incompatibilité foeto-maternelle, une nouvelle programmation des examens est possible et des titrages doivent être effectués à période rapprochées.

➤ *Les patients transplantés*

B –Réalisation

La recherche d'anticorps irréguliers (R.A.I.) est un examen de réalisation difficile et d'interprétation souvent complexe. Cet examen réalisé dans de bonnes conditions est la base de la sécurité immunologique des transfusions, et de la prévention et de la détection des accidents d'allo-immunisation foeto-maternelle.

Les modalités de prélèvement pour l'exécution de cet examen doivent répondre aux mêmes règles que celles observées pour la détermination du groupe sanguin.

La recherche d'anticorps irréguliers se déroule toujours en deux temps : le dépistage et l'identification.

Le dépistage est le premier temps de toute recherche d'anticorps irréguliers ; au terme de cette épreuve, le laboratoire a la capacité de répondre « présence » ou « absence » d'anticorps irréguliers (chapitre B V n° d'ordre 147 de la nomenclature des actes de biologie médicale).

En cas de dépistage positif dans l'une ou l'autre des techniques utilisées, il faut alors procéder à l'épreuve d'identification qui consiste à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents (chapitre B V n° d'ordre 148 de la nomenclature des actes de biologie médicale).

Les recherches d'anticorps irréguliers sont essentiellement pratiquées selon des techniques manuelles. Trois techniques exécutées conjointement sont souhaitables pour mettre en évidence la totalité des anticorps irréguliers : le test d'agglutination en « saline » (soluté isotonique de chlorure de sodium 9 ‰ ou 0,15 M) à la température du laboratoire 20 ± 2 °C, le test de Coombs indirect et un test aux enzymes, (ces deux dernières techniques étant obligatoires). Les conditions techniques de ces tests sont précisées en annexe I. *Le titrage d'anticorps irréguliers n'est pas obligatoire en dehors de la grossesse.*

Le matériel utilisé dans les épreuves permettant la recherche des anticorps irréguliers doit être particulièrement bien défini :

1) ***les gammes d'hématies tests doivent répondre aux données de l'arrêté du 8 février 1984 précité :***

- l'épreuve de dépistage* doit être réalisée à l'aide de globules rouges tests de dépistage : il s'agit d'une gamme de deux à quatre échantillons d'hématies tests de groupe O capables de détecter les anticorps correspondants aux antigènes D, C, c, E, e, Kell, Cellano, Le^a, Le^b, Fy^a, Fy^b, JK^a, JK^b, M, N, S, s et P1. Cette gamme est indispensable pour toute épreuve de dépistage.
- l'épreuve d'identification* doit être réalisée à l'aide des gammes adéquates définies ci-après : la gamme d'hématies pour l'identification comporte dix échantillons d'hématies tests sélectionnés pour les systèmes Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, Lewis, P, MNSs et Lutheran. En fait, une identification complète nécessite plus d'une gamme de dix globules rouges la gamme d'hématies de référence peut être également utilisée, elle comporte dix échantillons dont le phénotype est établi dans tous les systèmes de groupes sanguins connus et pour le plus grand nombre possible d'antigènes « publics » et « privés ». Cet échantillonnage doit permettre l'identification des anticorps courants ainsi que des anticorps plus rares correspondant à des antigènes non monomorphiques connus. Il doit permettre une orientation dans l'identification des mélanges d'anticorps.

2) Les antiglobulines

Trois types d'antiglobulines sont essentiellement utilisés : polyvalentes, anti-IgG, anti-compléments. Il est recommandé d'utiliser conjointement une antiglobuline polyvalente et une antiglobuline anti-IgG. Les

antiglobulines utilisées doivent avoir été contrôlées par le C.N.R.G.S. et de ce fait porter un numéro de conformité.

3) Les enzymes protéolytiques

La trypsine peut être utilisée dans le test de Coombs indirect trypsiné ; la papaïne est uniquement utilisée dans les tests à la papaïne à 37 °C. Il est recommandé de demander au distributeur les performances et les modalités d'utilisation de chaque lot d'enzymes ; en effet, certains enzymes peuvent détruire les antigènes de groupes sanguins, par exemple Fy^a, Fy^b, MNSs... Ces caractéristiques peuvent être attestées à la demande des distributeurs par le C . N . R . G . S .

C – Résultats

Les résultats de ces examens doivent être mentionnés en clair sur le compte rendu d'examen en vue de la transcription sur la carte de groupes sanguins et la fiche transfusionnelle définies dans l'annexe II. Sur le document de résultats, le laboratoire doit notamment mentionner :

- a) l'utilisation de panels de « n » hématies répondant au texte du 8 février 1984,
- b) les techniques utilisées,
- c) le respect des dispositions de la présente circulaire.

IV – L'ÉPREUVE DIRECTE DE COMPATIBILITÉ AU LABORATOIRE (E.D.C)

(chapitre B V n° d'ordre 151 de la nomenclature des actes de biologie médicale).

Il s'agit d'un test personnalisé qui permet de mettre en réaction le sérum du patient et les globules rouges qui doivent être transfusés. Les modalités de prélèvement répondent aux mêmes règles décrites ci-dessus. Ce test doit au minimum comporter deux épreuves dont un test de à l'antiglobuline et de préférence être réalisé selon les mêmes techniques que celles utilisées pour la recherche d'anticorps irréguliers. Les réactifs utilisés doivent répondre aux mêmes conditions que pour la recherche d'anticorps irréguliers.

Recherche d'anticorps irréguliers et épreuves directes de compatibilité au laboratoire sont en fait deux épreuves complémentaires qui ne s'excluent en aucun cas.

V – LA DÉTERMINATION DES PHÉNOTYPES ERYTHROCYTAIRES

En dehors de la détermination des phénotypes ABO et Rh standard (D), le laboratoire peut, dans certains cas, devoir réaliser la détermination du phénotype dans les systèmes de groupes sanguins Rhésus (C, c, C^w, E, e) et Kell (K) (chapitre B V n° d'ordre 145 de la nomenclature des actes de biologie médicale). D'autres phénotypes peuvent, dans certains cas, être pratiqués : système Duffy (Fy^a, Fy^b), système Kidd (JK^a, JK^b), système MNSs (S, s), système Lewis (Le^a, Le^b), (chapitre B V n° d'ordre 146 de la nomenclature des actes de biologie médicale). Cette liste de phénotypes n'est pas exhaustive.

Ces phénotypes doivent être réalisés à l'aide de réactifs contrôlés par le C . N . R . G . S. selon l'arrêté du 8 février 1984 suscit. Les principales indications de la détermination de phénotypes érythrocytaires sont indiquées :

- En cas d'existence d'anticorps irréguliers, afin de pouvoir confirmer ce résultat et ultérieurement de transfuser le patient à l'aide de sang phénotypé ; cet examen peut être pratiqué à l'initiative du biologiste.
- Chez le patient polytransfusé potentiel (en sachant que les systèmes impliqués dans l'alloimmunisation sont essentiellement les systèmes Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, Ss...).
- Chez les sujets de sexe féminin non ménopausés devant recevoir des transfusions afin d'éviter une alloimmunisation notamment dans les systèmes Rhésus et Kell.
- Lorsqu'une transplantation est prévue.

Les résultats de la détermination des phénotypes doivent être consignés sur la carte de groupes sanguins et sur la fiche transfusionnelle.

VI – LA VERIFICATION ULTIME AU LIT DU MALADE

La transfusion sanguine est un acte médical qui engage la responsabilité du médecin qui la prescrit, de celui qui l'effectue et de personnes agissant sous leur direction. La vérification des compatibilités au lit du malade est effectuée sous la responsabilité directe du médecin qui réalise la transfusion.

Il est indispensable d'effectuer cette vérification de la compatibilité du sang du receveur et du sang à injecter, avant toute transfusion ; cette vérification comporte :

- a) le contrôle attentif de la concordance entre l'identité du receveur et les noms, prénoms et date de naissance portés sur la carte de groupes sanguins (ou le document qui en tient lieu) entre les groupes sanguins mentionnés sur cette carte et l'étiquette de l'unité de sang à transfuser,
- b) une vérification ultime au lit du malade, réalisée par le médecin lui-même ou par un auxiliaire médical placé sous sa responsabilité directe. Les modalités pratiquées sont précisées en annexe I.

VII – LES DOCUMENTS CORRESPONDANT AUX EXAMENS

Les résultats de ces examens doivent être consignés selon les cas sur plusieurs types de document définis dans l'annexe II :

- carte de groupes sanguins,
- compte rendu des résultats des recherches d'anticorps irréguliers,
- fiche transfusionnelle.

Ce dernier document a été établi pour tenir compte du fait que dans toute transfusion interviennent le médecin prescripteur, le laboratoire, le service qui délivre le sang et le médecin transfuseur. Il est donc indispensable que les renseignements que chacun d'eux détient puissent facilement et rapidement être portés à la connaissance de ses partenaires ; il est notamment très important que le médecin prescripteur transmette les informations qu'il possède sur les antécédents du malade ; il est d'ailleurs souhaitable, dans certains cas, qu'il recueille le point de vue du médecin de l'établissement de transfusion sanguine sur le choix du produit sanguin à injection au malade.

L'information mutuelle des médecins impliqués dans la transfusion sanguine sera facilitée par la tenue d'une fiche transfusionnelle. Plusieurs établissements utilisant déjà un tel document, il n'est pas apparu opportun d'imposer le même modèle à tous ; par contre, un certain nombre de renseignements devront figurer sur cette fiche ; ils sont énumérés dans l'annexe II.

Il appartient aux médecins concernés de définir les modalités de conservation de cette fiche transfusionnelle ; il est en effet, difficile de décider d'emblée quelle serait sa meilleure place ; dossier constitué par le médecin traitant, dossier hospitalier, archives de l'établissement de transfusion sanguine, ou dossier personnel du patient.

L'établissement de cette fiche transfusionnelle n'exclut pas, bien entendu, la remise à tout malade polytransfusé possédant un ou plusieurs anticorps ayant une importance transfusionnelle, d'une carte particulière qu'il devra conserver sur lui mentionnant l'existence de la fiche et le médecin ou le service qui la détient.

Je vous demande de bien vouloir diffuser largement les présentes instructions auprès des médecins chefs de service d'hospitalisation public ou privé, des médecins des établissements de transfusion sanguine, des directeurs de laboratoire de biologie médicale et de veiller à ce qu'elles soient commentées au cours d'une prochaine réunion du comité départemental de transfusion sanguine.

Je souhaiterais être tenu informé par vos soins de toutes suggestions que cette question de la sécurité transfusionnelle pourrait entraîner de la part de ceux ayant le souci d'assurer aux malades le bienfait total d'une thérapeutique rendue possible par le dévouement des donneurs de sang bénévoles.

Le Directeur Général de la santé,
Professeur Jacques ROUX